

Chromatogram profile and Antibacterial Activity extract etanol of Curcuma xanthorrhiza Roxb rhizome for Escherichia coli growth in vitro

Sarlin A Ananggia*, Murnah**

ABSTRACT

Background : Nowadays people tend to use natural ingredients as a form of alternative medication, one of them is *Curcuma xanthorrhiza* Roxb, a kind of Zingiberaceae, believed as a medication for many diseases. As reported from the previous research, *Curcuma xanthorrhiza* Roxb had an antibacterial effect.

Objective : The purpose of this study was to know chromatogram profile and antibacterial activity extract etanol of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb rhizome for *Escherichia coli* growth in vitro.

Method : This study were descriptive study and experimental study using the "post test only control group design". Descriptive study, the sample was extract etanol of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb rhizome and the sample of experimental study was *E.coli* with standard strain ATCC 25922. For profile chromatogram the method which were used thin layer chromatography which the extract were put a drop on chromatograph plate then the chromatograph plate put in closed erlenmeyer with etil asetat and antibacterial activity test with dilution method, these were divided into 5 test groups and 3 control groups. The test groups treated with the different dose extract etanol of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb rhizome from 6,25 % v/v until 100 %. And the 3 control groups were positive control, negative control, and sample control.

Result : The results of analysis using thin layer chromatography was found 5 spot.

To determine MIC, after Kruskal-Wallis Test was done, the result was significant ($p < 0,05$) and followed by Mann-Whitney Test, significant from the dose 50 % v/v.

To determine MBC, after Kruskal-Wallis Test was done, the result was significant ($p < 0,05$) and followed by Mann-Whitney Test, significant when the dose 100 %.

Conclusions : *Curcuma xanthorrhiza* have some compounds.

Curcuma xanthorrhiza Roxb were bacteriostatic and bactericidal for *E. coli*. MIC for *E.coli* was 50 % v/v. MBC for *E. coli* was 100 %.

Keywords : *Curcuma xanthorrhiza* Roxb, *Escherichia coli*, antibacterial activity, MIC (Minimum Inhibitory Concentration), MBC (Minimum Bactericidal Concentration).

* Student, Medical Faculty, Diponegoro University

** Lecturer, Medical Chemistry Department, Diponegoro University

Profil Kromatogram dan Aktivitas Antibakterial ekstrak etanol rimpang Temulawak terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* in vitro

Sarlin A Ananggia*, Murnah**

ABSTRAK

Latar Belakang : Akhir-akhir ini masyarakat mulai menggunakan bahan-bahan alami sebagai salah satu bentuk pengobatan alternatif, diantaranya Temulawak, salah satu golongan *Zingiberaceae* yang dipercaya dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit. Berdasarkan laporan dari penelitian sebelumnya Temulawak juga mempunyai efek antibakterial.

Tujuan : Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui bagaimana profil kromatogram dan aktivitas antibakterial ekstrak etanol rimpang Temulawak terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* secara in vitro.

Metode : Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dan penelitian eksperimental dengan rancangan "*post test only control group design*". Pada penelitian deskriptif, sampel penelitian adalah ekstrak etanol rimpang Temulawak dan pada penelitian eksperimental, sampel penelitian yaitu *E.coli* dengan strain standard ATCC 25922. Untuk profil kromatogram metode yang digunakan adalah kromatografi lapis tipis dimana ekstrak ditotolkan pada pelat kromatograf lalu pelat kromatograf dimasukkan di dalam bejana tertutup yang berisi larutan etil asetat dan uji aktivitas antibakteri dengan metode dilusi cair, dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan dan 3 kelompok kontrol. Masing-masing kelompok perlakuan diberi ekstrak etanol rimpang Temulawak dengan dosis berbeda-beda dengan kelipatan 2 mulai dari 6,25 % v/v sampai dengan 100%. Dan 3 kelompok kontrolnya yaitu kontrol positif, kontrol negatif, dan kontrol sampel.

Hasil : Hasil analisis menggunakan kromatografi lapis tipis terdapat 5 bercak warna.

Untuk menentukan KHM, setelah dilakukan uji *Kruskal-Wallis Test* didapatkan perbedaan bermakna ($p < 0,05$) dan dilanjutkan dengan *Mann-Whitney Test* didapatkan perbedaan bermakna mulai dosis 50 % v/v.

Untuk menentukan KBM setelah dilakukan uji *Kruskal-Wallis Test* didapatkan perbedaan bermakna ($p < 0,005$) dan dilanjutkan dengan *Mann-Whitney Test* didapatkan perbedaan bermakna pada dosis 100 %.

Kesimpulan : Temulawak memiliki beberapa komponen.

Temulawak bersifat bakteriostatik dan bakterisid terhadap *E. coli*. KHM Temulawak terhadap *E. coli* adalah 50 % v/v. KBM Temulawak terhadap *E. coli* adalah 100 %.

Kata kunci : Temulawak , *Escherichia coli*, aktivitas antibakteri, KHM (Kadar Hambat Minimum), KBM (Kadar Bunuh Minimum).

* Mahasiswa semester VIII Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

** Staf Pengajar Bagian Kimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro

PENDAHULUAN

Krisis ekonomi yang merupakan bagian dari krisis multidimensi di Indonesia menyebabkan tingginya biaya pengobatan dari obat-obatan kimia. Kondisi seperti itu mendorong masyarakat untuk mencari berbagai macam pengobatan alternatif. Salah satunya adalah pengobatan dengan tanaman obat.¹

Salah satu tanaman obat yang terbukti ampuh di kalangan pengobat dan masyarakat adalah *Curcuma xanthorrhiza* Roxb yang di Indonesia dikenal dengan nama “Temulawak”.¹ Tanaman ini dipercaya sebagai tumbuhan asli Indonesia yang diduga kuat berasal dari Pulau Jawa dan menyebar ke beberapa wilayah Indonesia.²

Temulawak telah lama digunakan untuk mengatasi berbagai gangguan kesehatan, seperti menambah nafsu makan, menyembuhkan sakit maag, batuk, asma, sariawan, panas, malaria, ambeien, sembelit dan diare.^{2,3}

Pada saat ini telah banyak dikembangkan zat antibakteri sintetik, tetapi fenomena resistensi juga semakin banyak dijumpai. Sehingga sekarang mulai banyak penelitian untuk mengembangkan dan menemukan obat baru yang efektif. Salah satu alternatifnya adalah dengan menggali dan mengembangkan obat terutama yang berasal dari bahan alami khususnya tumbuhan untuk mengatasi penyakit infeksi.⁴ Di Indonesia, Temulawak dan keluarga *Zingiberaceae* lainnya, baik tunggal maupun dikombinasi dengan tanaman obat lain, telah digunakan untuk mengobati berbagai penyakit infeksi, salah satunya adalah diare^{2,3,5}, dimana penyakit ini banyak disebabkan oleh

Escherichia coli.⁶ Berdasarkan penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa Temulawak bersifat antibakteri.²

Permasalahannya adalah bagaimana profil kromatogram dan berapa kadar Temulawak yang dapat menghambat dan atau membunuh *Escherichia coli*?

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah yang ada, maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui profil kromatogram dan mengukur aktivitas antibakteri Temulawak terhadap bakteri *Escherichia coli* secara in vitro.

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan menjadi bahan penelitian lebih lanjut mengenai kandungan Temulawak yang memiliki efek antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan menjadi pertimbangan masyarakat dalam menggunakannya sebagai antibiotik.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini adalah penelitian deskriptif dan penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design*. Pada penelitian deskriptif sampel penelitian adalah ekstrak Temulawak Sampel penelitian berupa kuman *Escherichia coli* strain standard (ATCC 25922) yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi FK UNDIP Semarang. Penelitian ini dilakukan di laboratorium kimia dan mikrobiologi FK UNDIP Semarang.

Penelitian ini menggunakan metode kromatografi lapis tipis dan metode dilusi .

Pada metode kromatografi lapis tipis:

- Ekstrak etanol rimpang Temulawak dilarutkan dalam alkohol selanjutnya ditotolkan pada pelat kromatograf silika gel GF
- Dimasukkan ke dalam bejana pengembang yang berisi cairan pengembang yaitu etil asetat
- Dieluasi sampai 8 cm
- Pelat kromatograf di angkat dan dibiarkan mengering
- Di amati di bawah sinar Ultraviolet 256 nm dan 365 nm

Data yang dikumpulkan adalah data primer hasil pengamatan bercak warna pada pelat kromatograf saat di sinari sinar Ultraviolet 256 nm dan 365 nm.

Pada metode dilusi dibagi menjadi 8 kelompok :

- Kelompok perlakuan 1 (P1) : 1 ml larutan ekstrak etanol rimpang Temulawak dalam media Muller Hinton cair dengan konsentrasi 100 % ditambah 0,1 ml suspensi bakteri.
- Kelompok perlakuan 2 (P2) : 1 ml larutan ekstrak etanol rimpang Temulawak dalam media Muller Hinton cair dengan konsentrasi sampel 50% v/v ditambah 0,1 ml suspensi bakteri.
- Kelompok perlakuan 3 (P3) : 1 ml larutan ekstrak etanol rimpang Temulawak dalam media Muller Hinton cair dengan konsentrasi sampel 25% v/v ditambah 0,1 ml suspensi bakteri.

- Kelompok perlakuan 4 (P4) : 1 ml larutan ekstrak etanol rimpang Temulawak dalam media Muller Hinton cair dengan konsentrasi sampel 12,5% v/v ditambah 0,1 ml suspensi bakteri.
- Kelompok perlakuan 5 (P5) : 1ml larutan ekstrak etanol rimpang Temulawak dalam media Muller Hinton cair dengan konsentrasi sampel 6,25% v/v ditambah 0,1 ml suspensi bakteri.
- Kelompok kontrol sampel (KS) : 1 ml larutan ekstrak etanol rimpang Temulawak dalam media Muller Hinton cair dengan konsentrasi sampel 3,125 % v/v.
- Kelompok kontrol negatif (K-) : 1 ml larutan ekstrak etanol rimpang Temulawak dalam media Muller Hinton cair dengan konsentrasi sampel 1,5625 % v/v ditambah 0,1 ml suspensi bakteri dan 0,1 ml formalin.
- Kelompok kontrol positif (K+) : 1 ml media Muller Hinton cair dan 0,1 ml suspensi bakteri.

Masing-masing kelompok diatas dilakukan pengulangan sebanyak 7 kali percobaan (7 tabung). Kesemua tabung tersebut diinkubasi pada suhu 37° C selama 18-24 jam, kemudian diamati, dibandingkan dengan kontrol. Larutan sampel terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri (ditandai dengan

kejernihan secara visual) ditentukan sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM) / *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC).

Untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimal (KBM) / *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC), larutan tadi digoreskan pada media MacConckey agar. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. MBC ditentukan pada konsentrasi terkecil dimana pada media tidak terdapat pertumbuhan koloni kuman.

Data yang dikumpulkan adalah data primer hasil pengamatan tingkat kejernihan secara visual media Muller Hinton cair dan hasil pertumbuhan koloni kuman pada MacConckey agar, dengan menganalisis lima kelompok perlakuan dan tiga kelompok kontrol. Pada penelitian ini variabel bebasnya adalah dosis ekstrak etanol rimpang Temulawak dan variabel tergantungnya adalah tingkat pertumbuhan kuman (skala nominal) dengan kriteria negatif (-) bila tidak terdapat pertumbuhan koloni kuman dan positif (+) bila terdapat pertumbuhan koloni kuman.

Keseluruhan data diuji distribusi normalnya dengan *Kolmogorov-smirnov*, jika distribusinya normal, dilakukan uji beda *ANOVA*, apabila distribusinya tidak normal, dilakukan uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan uji *Mann-Whitney*. Pengolahan data dilakukan dengan SPSS 13.0 for Windows.

HASIL

Pada tabel 1 ditampilkan warna dan harga Rf dari kromatografi lapis tipis ekstrak etanol rimpang temulawak di bawah sinar Ultraviolet 256 nm dan 365 nm.

Tabel 1. Hasil Kromatografi Lapis Tipis ekstrak etanol rimpang Temulawak

Panjang gelombang	Warna	Rf
256 nm	Ungu	0,73
	Ungu	0,81
365 nm	Kuning	0,63
	Kuning	0,66
	Kuning	0,73

Pada tabel 2 ditampilkan hasil uji aktivitas antibakteri untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol rimpang Temulawak terhadap *E.coli* strain standard (ATCC 25922) dengan 5 kelompok perlakuan dan 3 kelompok kontrol.

Tabel 2. Kadar Hambat Minimum ekstrak etanol rimpang Temulawak terhadap *E.coli* strain standard (ATCC 25922)

Perlakuan					Kontrol		
P1	P2	P3	P4	P5	K S	K-	K+
Jernih	Jernih	Keruh	Keruh	Keruh	Jernih	Jernih	Keruh
Jernih	Jernih	Keruh	Keruh	Keruh	Jernih	Jernih	Keruh
Jernih	Jernih	Keruh	Keruh	Keruh	Jernih	Jernih	Keruh
Jernih	Jernih	Jernih	Keruh	Keruh	Jernih	Jernih	Keruh
Jernih	Jernih	Keruh	Keruh	Keruh	Jernih	Jernih	Keruh
Jernih	Jernih	Keruh	Keruh	Keruh	Jernih	Jernih	Keruh
Jernih	Jernih	Jernih	Keruh	Keruh	Jernih	Jernih	Keruh

Keterangan :

P1 : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak etanol rimpang Temulawak 100 %

P2 : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak etanol rimpang Temulawak 50 %

v/v

P3 : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak etanol rimpang Temulawak 25 %

v/v

P4 : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak etanol rimpang Temulawak 12,5 %

v/v

P5 : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak etanol rimang Temulawak 6,25 %

v/v

K S : Kontrol sterilitas sampel ekstrak etanol rimang Temulawak

K - : Kontrol negatif

K + : Kontrol positif

Uji distribusi data dengan menggunakan *Kolmogorov smirnov* didapatkan distribusi data yang tidak normal ($p < 0,05$). Lalu dilakukan uji beda dengan *Kruskal Wallis Test* didapatkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Kemudian dilanjutkan dengan *Mann-Whitney Test* (Tabel 3). Secara statistik Kadar Hambat Minimum (KHM) ditentukan pada konsentrasi terkecil dimana tidak terdapat perbedaan bermakna dibandingkan dengan kontrol negatif ($p > 0,05$) dan terdapat perbedaan bermakna bila dibandingkan dengan kontrol positif ($p < 0,05$).

Tabel 3. Hasil *Mann-Whitney Test* untuk Kadar Hambat Minimum ekstrak etanol rimang Temulawak terhadap *E. coli* strain standard (ATCC 25922)

	P1	P2	P3	P4	P5	K S	K-	K+
P1								
P2	1,000							
P3	0,007*	0,007*						
P4	0,000*	0,000*	0,141					
P5	0,000*	0,000*	0,141	1,000				
K S	1,000	1,000	0,007*	0,000*	0,000*			
K-	1,000	1,000	0,007*	0,000*	0,000*	1,000		
K+	0,000*	0,000*	0,141	1,000	1,000	0,000*		

Keterangan :

- P1 : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak etanol rimpang Temulawak 100 %
v/v
- P2 : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak etanol rimpang Temulawak 50 %
v/v
- P3 : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak etanol rimpang Temulawak 25 %
v/v
- P4 : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak etanol rimpang Temulawak 12,5 %
v/v
- P5 : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak etanol rimang Temulawak 6,25 %
v/v
- K S : Kontrol sterilitas sampel ekstrak etanol rimpang Temulawak
- K - : Kontrol negatif
- K + : Kontrol positif
- * : Terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$)

Pada tabel 4 ditampilkan hasil uji aktivitas antibakteri yang menunjukkan Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol rimpang Temulawak terhadap *E.coli* strain standard (ATCC 25922) dari 5 kelompok perlakuan dan 3 kelompok kontrol.

Tabel 4. Kadar Bunuh Minimum ekstrak etanol rimpang Temulawak terhadap strain standard *E. coli* (ATCC 25922)

Perlakuan					Kontrol		
P1	P2	P3	P4	P5	K S	K-	K+
-	+	+	+	+	-	-	+
-	+	+	+	+	-	-	+
-	+	+	+	+	-	-	+
-	-	+	+	+	-	-	+
-	+	+	+	+	-	-	+
-	+	+	+	+	-	-	+
-	-	+	+	+	-	-	+

Keterangan :

P1 : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak etanol rimpang Temulawak 100 %

P2 : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak etanol rimpang Temulawak 50 %

v/v

P3 : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak etanol rimpang Temulawak 25 %

v/v

P4 : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak etanol rimpang Temulawak 12,5 %

v/v

P5 : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak etanol rimang Temulawak 6,25 %

v/v

K S : Kontrol sterilitas sampel ekstrak etanol rimpang Temulawak

K - : Kontrol negatif

K + : Kontrol positif

+

: Terdapat pertumbuhan bakteri

-

: Tidak terdapat pertumbuhan bakteri

Uji distribusi data dengan menggunakan *Kolmogorov smirnov* didapatkan distribusi data yang tidak normal ($p < 0,05$). Lalu dilakukan uji beda dengan *Kruskal Wallis Test* didapatkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$). Kemudian dilanjutkan dengan *Mann-Whitney Test* (Tabel 5). Secara statistik Kadar Bunuh Minimum (KBM) ditentukan pada konsentrasi terkecil dimana tidak terdapat perbedaan bermakna dibandingkan dengan kontrol negatif ($p > 0,05$) dan terdapat perbedaan bermakna bila dibandingkan dengan kontrol positif ($p < 0,05$).

Tabel 5. Hasil *Mann-Whitney Test* untuk Kadar Bunuh Minimum ekstrak etanol rimpang Temulawak terhadap *E. coli* strain standard (ATCC 25922)

	P1	P2	P3	P4	P5	K S	K-	K+
P1								
P2	0,007*							
P3	0,000*	0,141						
P4	0,000*	0,141	1,000					
P5	0,000*	0,141	1,000	1,000				
K S	1,000	0,007*	0,000*	0,000*	0,000*			
K-	1,000	0,007*	0,000*	0,000*	0,000*	1,000		
K+	0,000*	0,141	1,000	1,000	1,000	0,000*	0,000*	

Keterangan :

P1 : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak etanol rimpang Temulawak 100 %

P2 : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak etanol rimpang Temulawak 50 %

v/v

P3 : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak etanol rimpang Temulawak 25 %

v/v

P4 : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak etanol rimpang Temulawak 12,5 %

v/v

P5 : Perlakuan dengan konsentrasi ekstrak etanol rimpang Temulawak 6,25 %

v/v

K S : Kontrol sterilitas sampel ekstrak etanol rimpang Temulawak

K - : Kontrol negatif

K + : Kontrol positif

* : Terdapat perbedaan bermakna ($p < 0,05$)

PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa Temulawak yang rimpangnya diekstrak dengan pelarut etanol bila dikromatografi lapis tipis dengan cairan pengembang etil asetat pada pelat kromatograf silika gel GF mengandung sejumlah komponen senyawa kimia yang ditunjukkan dengan tampaknya beberapa bercak warna dilihat dibawah sinar Ultraviolet.⁷ Pada panjang gelombang 256 nm didapatkan 2 bercak warna ungu dengan harga Rf masing-masing 0,73 ; 0,81 dan pada panjang gelombang 365 nm tampak 3 bercak warna kuning dengan harga Rf masing-masing 0,63 ; 0,66 ; 0,73.

Dan berdasarkan penelitian ini, Temulawak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*. Dengan metode dilusi ekstrak etanol rimpang Temulawak menunjukkan Kadar Hambat Minimum terhadap *E. coli* pada dosis 50 % v/v (K- $p > 0,05$ dan K+ $p < 0,05$) dan pada dosis 100 % secara statistik menunjukan Kadar Bunuh Minimal (K- $p > 0,05$ dan K+ $p > 0,05$). Karena memiliki KBM dan KHM maka Temulawak diperkirakan bersifat bakteriostatik dan bakterisidal.

Hasil penelitian diatas mendukung penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa Temulawak bersifat antibakteri.^{2,8} Dimana dari hasil penelitian sebelumnya diketahui bahwa khasiat Temulawak terutama disebabkan oleh 2 kandungan kimia utamanya, yaitu kurkuminoid dan minyak atsiri⁹ dimana keduanya memiliki sifat antibakteri.¹⁰⁻¹⁴ Hal tersebutlah yang mungkin menyebabkan Temulawak menunjukkan aktivitas antibakteri secara bermakna terhadap *E. coli*.

KESIMPULAN

1. Temulawak mengandung sejumlah komponen senyawa kimia
2. Temulawak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*
3. KHM Temulawak terhadap *E. coli* adalah 50 % v/v dan KBM Temulawak terhadap *E. coli* adalah 100 %
4. Temulawak mempunyai sifat bakteriostatik dan bakterisidal terhadap *Escherichia coli*

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai komponen senyawa kimia Temulawak
2. Perlu diadakan penelitian lebih lanjut tentang kandungan zat aktif pada Temulawak yang dapat digunakan sebagai antibakteri
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang mekanisme antibakteri kandungan zat aktif pada Temulawak

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Dra. Murnah ,Apt selaku dosen pembimbing dalam penelitian.
2. Seluruh staf laboratorium Kimia dan Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.
3. Semua pihak yang turut membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Mahendra B. 13 Jenis Tanaman Obat Ampuh. Jakarta: Penebar Swadaya. 2005:5-6
2. Afifah, Evi dan Tim Lentera. Khasiat dan Manfaat Temulawak. Jakarta: Agromedia Pustaka. 2003:2-13
3. Anonymous. Temulawak Gingsengnya Indonesia. Available from: URL HYPERLINK:
<http://www.pikiran-rakyat.com/cetak/2006/012006/26/cakrawala/lainnya06.htm>. diakses tanggal 19 Januari 2007
4. Anonymous. Antibiotik dan Resistensi Mikroba. Available from: URL HYPERLINK:
<http://www.kompas.com/kesehatan/news/0204/16/052943.htm>. diakses tanggal 18 Februari 2007
5. Duryatmo S. Aneka ramuan berkhasiat dari temu-temuan. Jakarta: Puspa Swara. 2003:19,35
6. Tjokronegoro A,Utama H. Ilmu Penyakit Dalam.Edisi ketiga. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.1999
7. Hostettmann K,Hostettmann M,Marston A. Cara Kromatografi Preparatif. Bandung: ITB. 1995:9-11
8. Anonymous. Informasi Indikasi Tanaman Obat Tradisional. Semarang: Sentra Pengembangan dan Penerapan Pengobatan Tradisional. 2006

9. Yuliani, Sri. Prospek Pengembangan Obat Tradisional menjadi Obat Fitofarmaka. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Available from: URL HYPERLINK: <http://www.sumutprov.go.id/download.php> diakses tanggal 25 Juni 2007
10. Sundari D, Widowati L, Wahjoedi B, Winarno MW. Penelitian Tanaman Obat di beberapa Perguruan Tinggi di Indonesia. Edisi 10. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI. 2000. Available from: URL HYPERLINK: http://www.warintek.ristek.go.id/pangan_kesehatan/tanaman_obat/pt/buku10.pdf diakses tanggal 8 Juni 2007
11. Dzulkarnain B, Sundari D, Chozin A. Tanaman Obat Bersifat Antibakteri di Indonesia. Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI. Jakarta. Available from: URL HYPERLINK: <http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/> diakses tanggal 25 Juni 2007
12. Anonymous. Temulawak Cegah Kanker Payudara . Available from: URL HYPERLINK: <http://www.pikiran-rakyat.com/cetak/2006/092006/18/cakrawala/lainnya06.htm> diakses tanggal 25 Juni 2007
13. Anonymous. Rebiocurcuma. Available from: URL HYPERLINK: <http://www.rich.co.id/rebio/ebiocurcuma.html> diakses tanggal 8 Juni 2007

14. Reveline, Irene. Pengaruh Kadar PEG 6000 dalam Dispersi Padat Ekstrak Rimpang Kunyit dengan Matriks PEG 6000 terhadap Laju Disolusi Kurkuminoid. Available from: URL HYPERLINK:
<http://www.adln.lib.unair.ac.id//2006.htm>. diakses tanggal 25 Juni 2007